

09/508088
PCT/EP 98/05804
BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

EU

**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



EPO-DG 1

14. 11. 1998

Bescheinigung

REC'D	30 NOV 1998
WIFO	PCT

Herr Professor Dr. Wolf-Georg F o r s s m a n n in
Hannover/Deutschland hat eine Patentanmeldung unter der
Bezeichnung

"Zusammensetzung zur Therapie von Diabetes
mellitus und Fettsucht"

am 11. März 1998 beim Deutschen Patentamt eingereicht.

Das angeheftete Stück ist eine richtige und genaue Wieder-
gabe der ursprünglichen Unterlage dieser Patentanmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patentamt vorläufig das Symbol
A 61 K 38/54 der Internationalen Patentklassifikation erhalten.

München, den 22. September 1998
Der Präsident des Deutschen Patentamts
Im Auftrag

zeichnen: 198 10 515.0

Hoiß

Zusammensetzung zur Therapie von
Diabetes mellitus und Fettsucht

Die Erfindung betrifft die Zusammensetzung der Ansprüche 1 bis 29 sowie ein Arzneimittel enthaltend die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen.

Die hormonelle Regulation der Homöostase des Blutzuckers erfolgt primär durch die pankreatischen Hormone Insulin, Glukagon und Somatostatin. Sie werden in den Langerhansinseln im Pankreas produziert. Diese endokrine Regulation des Blutzuckers steht wiederum unter komplexer Kontrolle durch mit dem Blut zirkulierenden Metaboliten (Glukose, Aminosäuren, Katecholamine, etc.). Obwohl die Insulinsekretion aus dem endokrinen Pankreas überwiegend durch den Blutglukosespiegel stimuliert wird, gibt es auch parakrine Einflüsse durch Hormone wie Glukagon und Somatostatin, auf die Insulinsekretion. Die Modulation der Insulinsekretion in den Inselzellen des Pankreas wird über den Second Messenger zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) vermittelt.

Der cAMP-Metabolismus der Inselzellen des Pankreas wird auf verschiedenen Stufen reguliert. Zum einen kann die Produktion von cAMP in den pankreatischen Beta-Zellen stimuliert werden, zum anderen kann der Abbau von cAMP in den pankreatischen

Beta-Zellen durch verschiedene Phosphodiesterasen stimuliert oder inhibiert werden.

Phosphodiesterasen sind Enzyme, die zyklische Nukleotide (cAMP, cGMP) abbauen. Heutzutage werden sieben verschiedene Gruppen von Phosphodiesterasen, die eine unterschiedliche Substratspezifität und/oder einen unterschiedlichen Mechanismus der Aktivierung/Inhibition besitzen, unterschieden. Für die verschiedenen Gruppen der Phosphodiesterasen sind spezifische Inhibitoren beschrieben worden (z.B.: PDE I Inhibitor: Vinpocetin; PDE II Inhibitor: Trequinsin; PDE III Inhibitor: Milrinone; PDE VI Inhibitor: Rolipram PDE V Inhibitor: Zaprinast).

Guanylin und Uroguanylin sind Peptidhormone, die im Darm gebildet werden und im Blut zirkulieren. Sie gehören zu den Guanylatzyklase aktivierenden Peptiden und stimulieren in verschiedenen Geweben die Bildung von zyklischem Guanosinmonophosphat.

Überraschenderweise wurde gefunden, daß eine Zusammensetzung enthaltend mindestens zwei der nachstehend genannten Wirkstoffe A, B, C, wobei

- A = mindestens ein die Produktion von cAMP stimulierendes Hormon,
- B = mindestens eine den Abbau eines cyclischen Nukleotids hemmende Substanz,
- C = mindestens ein die Produktion von cGMP stimulierendes Hormon ist,

den Gaben der einzelnen Wirkstoffe zur Therapie überlegen ist.

Der Wirkstoff A ist zum Beispiel ein GLP-1/GLP-1-like Peptide, vorzugsweise GLP-1-(7-34)amid und/oder GLP-1-(7-36)amid.

Restwirkstoff B ist zum Beispiel ein Phosphodiesterase-inhibitor, vorzugsweise Inhibitor der Phosphodiesterasen der Gruppen III und/oder IV.

Der Wirkstoff C ist zum Beispiel ein Guanylatcyclase-C aktivierendes Peptid der Gene Guanylin und/oder Uroguanylin, vorzugsweise Guanylin-101-115 und/oder Uroguanylin-89-112.

Die erfindungsgemäße Zusammensetzung kann in Kombination mit einem oder mehreren Peptidhormonen, die Einfluß auf die Inselzellsekretion haben, wie z. B. die Hormone der Sekretin / Gastric Inhibitorische Peptid (GIP) / Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) / Pituitary Adenylate Cyclase Activating Peptide (PACAP) / Glucagon Like Peptide II (GLP-II) / Glicentin / Glukagon Genfamilie und/oder der Adrenomedullin, Amylin, Calcitonin Gene Related Peptide (CGRP) Genfamilie eingesetzt werden.

Vorzugsweise wird die erfindungsgemäße Zusammensetzung mit GLP-1 als GLP-1(7-34), GLP-1(7-35), GLP-1(7-36), oder GLP-1(7-37) in seiner C-terminal carboxylierten oder amidierten Form oder als modifizierte GLP-1 Peptide mit folgenden Modifikationen verwendet:

- (a) Substitution der Aminosäure Lysin in Position 26 und/oder 34 durch eine neutrale Aminosäure, Arginin oder eine D Form von Lysin oder Arginin und/oder Substitution von Arginin in Position 36 durch eine neutrale Aminosäure, Arginin oder eine D Form von Arginin oder Lysin,
- (b) Substitution von Tryptophan in Position 31 durch eine Oxidation-resistente Aminosäure,
- (c) mindestens eine Substitution in folgender Position durch die angegebene Aminosäure :
 - Y für V in Position 16;
 - K für S in Position 18;
 - D für E in Position 21;

- S für G in Position 22;
R für Q in Position 23;
R für A in Position 24; und
Q für K in Position 26;
- (d) mindestens eine Substitution in folgender Position durch die angegebene Aminosäure :
eine kleine neutrale Aminosäure für A in der Position 8;
eine saure oder neutrale Aminosäure für E in der Position 9;
eine neutrale Aminosäure für G in der Position 10; und
eine saure Aminosäure für D in der Position 15;
und/oder
- (e) Substitution der Aminosäure Histidin in der Position 7 durch eine neutrale Aminosäure oder die D oder die N-acetylierte oder alkylierte Form von Histidin wobei für die angegebenen Substitutionen die Aminosäuren wahlweise in der D- oder L-Form vorliegen und die in der Position 7 substituierte Aminosäure wahlweise in der N-acetylierten oder N-alkylierten Form substituiert ist.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform weist die erfindungsgemäße Zusammensetzung Modifikationen durch Austausch von Aminosäuren in D- oder L-Form auf. Insbesondere sind solche Modifikationen möglich, bei denen die Aminosäuren Lysin in den Positionen 26 und/oder 34 durch K⁺, G, S, A, L, I, Q, M, R und R⁺ und die Aminosäure Arginin in der Position 36 durch K, K⁺, G, S, A, L, I, Q, M, und R⁺ und/oder die Aminosäure Tryptophan in der Positionen 31 durch F, V, L, I, A und Y substituiert ist (Das Symbol ⁺ bedeutet die D-Form der entsprechenden Aminosäure).

Die oben angegebenen Modifikationen können wahlweise mit mindestens einer Substitution von S für G in Position 22, R in den Positionen 23 und 24 für Q und A, und Q für K in

der Position 26 kombiniert wird oder diese Substitutionen zusätzlich mit einer Substitution von D für E in der Position 21 kombiniert werden.

Eine weitere Modifikation betrifft die Substitution von wobei Alanin in Position 8 durch eine kleine neutrale Aminosäure aus der Gruppe von S, St, G, C, Ct, Sar, At, beta-ala, und Aib, wobei die in Position 9 für Glutaminsäure substituierte saure oder neutrale Aminosäure aus der Gruppe von Et, D, Dt, Cay, T, Tt, N, Nt, Q, Qt, Cit, MSO, und acetyl-K und wobei die in Position 10 für Glycin substituierte neutrale Aminosäure aus der Gruppe von S, St, Y, Yt, T, Tt, N, Nt, Q, Qt, Cit, MSO, acetyl-K, F, und Ft stammt.

Auch eine Modifikation, bei der die in Position 7 für Histidin substituierte Aminosäure aus der Gruppe von Ht, Y, Yt, F, Ft, R, Rt, Orn, Ornt, M, Mt, N-formyl-H, N-formyl-Ht, N-acetyl-H, N-acetyl-Ht, N-isopropyl-H, N-isopropyl-Ht, N-acetyl-K, N-acetyl-Kt, P, and Pt stammt, kann verwendet werden.

Insbesondere kommen folgende modifizierte Peptide in den erfindungsgemäßen Zusammensetzungen in Betracht:

(Ht)7-GLP-1(7-37), (Y)7-GLP-1(7-37), (N-acetyl-H)7-GLP-1(7-37), (N-isopropyl-H)7-GLP-1(7-37), (At)8-GLP-1(7-37), (Et)9-GLP-1(7-37), (D)9-GLP-1(7-37), (Dt)9-GLP-1(7-37), (Ft)10-GLP-1(7-37), (S)22(R)23(R)24(Q)26-GLP-1(7-37) und/oder (S)8(Q)9(Y)16(K)18(D)21-GLP-1(7-37) ist.

Desweiteren kommt als Wirkstoff A in der erfindungsgemäßen Zusammensetzung ein Peptid, daß im Vergleich zu GLP-1(7-34), GLP-1(7-35), GLP-1(7-36), oder GLP-1(7-37) oder dem C-terminalen Amid eine erhöhte Resistenz gegen Degradation im Plasma besitzt und/oder mindestens eine der folgenden Modifikationen besitzt:

(α) Substitution von Histidin in Position 7 durch die D Form einer neutralen oder sauren Aminosäure oder der D Form von Histidin;

(β) Substitution von Alanin in Position 8 durch die D Form einer Aminosäure, und

(χ) Substitution von Histidine in Position 7 durch eine N-acylierte (1-6C) oder N-alkylierte (1-6C) Form einer alternativen Aminosäure oder Histidin, in Frage.

Histidin in Position 7 kann durch eine Aminosäure der Gruppe Pt, Dt, Et, Nt, Qt, Lt, Vt, It, und Ht substituiert, die D-Aminosäure in Position 8 durch eine Aminosäure der Gruppe Pt, Vt, Lt, It, und At substituiert und/oder die D-Aminosäure in Position 8 durch eine alkylierte oder acetylierte Aminosäure der Gruppe P, D, E, N, Q, V, L, I, K, und H substituiert sein.

In einer anderen bevorzugten Ausführungsform weist die erfindungsgemäße Zusammensetzung mindestens ein modifiziertes Peptid der folgenden Art auf: (Ht)7-GLP-1(7-37), (N-acetyl-H)7-GLP-1(7-37), (N-isopropyl-H)7-GLP-1(7-37), (N-acetyl-K)7-GLP-1(7-37) und/oder (At)8-GLP-1(7-37) ist.

Es ist für den Fachmann verständlich, daß die Peptidwirkstoffe in phosphorylierter, acetylierter und/oder glycosylierter Form vorliegen können.

Als Wirkstoff B in der erfindungsgemäßen Zusammensetzung kommen insbesondere unspezifische Phosphodiesteraseinhibitoren, wie Papaverin, Theophyllin, Enprofylline und/oder IBMX oder spezifische Phosphodiesterasen-Inhibitoren zum Einsatz.

Besonders bevorzugt sind Phosphodiesteraseinhibitoren, die die Phosphodiesterasen der Gruppe III (cGMP-inhibierte Phosphodiesterasen) hemmen, Indolidan (LY195115), Cilostamide (OPC 3689), Lixazinone (RS 82856), Y-590, Imazodan (CI914),

SKF 94120, Quazinone, ICI 153,110, Cilostazol, Bemorandan (RWJ 22867), Siguazodan (SK&F 94-836), Adibendan (BM 14,478), Milrinone (WIN 47203), Enoximone (MDL 17043), Pimobendan (UD-CG 115), MCI-154, Saterinone (BDF 8634), Sulmazole (ARL 115), UD-CG 212, Motapizone, Piroximone, ICI 118233 und/oder Phosphodiesteraseinhibitoren, die die Phosphodiesterasen der Gruppe IV (cAMP-spezifische Phosphodiesterasen) hemmen, wie Rolipram ZK 62711; Pyrrolidone), Imidazolidinone (RO 20-1724), Etazolate (SQ-65442), Denbufylline (BRL 30892) ICI63197 und/oder RP73401.

Auch die Phosphodiesteraseinhibitoren, die sowohl Phosphodiesterasen der Gruppen III als auch der Gruppe IV hemmen Tolafentrine, Zardaverine, EMD54622 und/oder Org30029 sind in der erfindungsgemäßen Zusammensetzung einsetzbar.

Das erfindungsgemäße Arzneimittel enthält eine wirksame Menge der erfindungsgemäßen Zusammensetzung und ist zur Therapie von insulinabhängigen Diabetes mellitus, nicht insulinabhängigen Diabetes mellitus, MODY (maturity-onset diabetes in young people), sekundärer Hyperglykämien im Zusammenhang mit Pankreaserkrankungen (chronische Pankreatitis, Pankreasektomie, Hämochromatose) oder endokrinen Erkrankungen (Akromegalie, Cushing-Syndrom, Phäochromozytom oder Hyperthyreose), medikamentös induzierter Hyperglykämien (Benzuthiadiazin-Saluretika, Diazoxid oder Glukokortikoide), von pathologischer Glukosetoleranz, von Hyperglykämien, von Dyslipoproteinämien, von Fettsucht, von Hyperlipoproteinämien und/oder Hypothonien geeignet.

Überraschenderweise zeigen die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen zum Beispiel eine deutlich bessere therapeutische Wirkung bei Diabetes mellitus als die Monotherapien mit den Einzelkomponenten.

Untersuchungen ergaben, daß die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen im Tierversuch zu einer signifikant höheren

Insulinfreisetzung führen als die Einzelkomponente GLP-1, Phosphodiesteraseinhibitoren, Guanylin oder Uroguanylin. Der Blutzuckerspiegel wird durch die erfindungsgemäße Zusammensetzung deutlich stärker gesenkt als durch die jeweiligen Einzelkomponenten. Weiterhin zeigte sich, daß bei den erfindungsgemäßen Zusammensetzungen die therapeutische Dosis insbesondere von GLP-1 signifikant reduziert werden konnte. Aber auch für die anderen Komponenten der erfindungsgemäßen Zusammensetzung besteht ein positiv synergistischer Effekt.

Überraschenderweise konnte in Tierversuchen gezeigt werden, daß die Wirkdauer von GLP-1 auf den Blutzucker durch die Kombination mit Phosphodiesteraseinhibitoren oder den Guanylatzyklase aktivierenden Peptiden um das 4- bis 5-fache verlängert werden kann. Diesen Ergebnissen liegt die Bestimmung des Blutzuckerspiegels nach einmaliger intravenöser Injektion der verschiedenen Kombinationen zugrunde. Der Blutzuckerspiegel wurde anschließend über einen Zeitraum von 6 Stunden bestimmt.

Während GLP-1 in der Monotherapie kontinuierlich verabreicht werden muß, kann durch die erfindungsgemäße Kombination mit Phosphodiesteraseinhibitoren oder Guanylatzyklase aktivierenden Peptiden eine diskontinuierliche Gabe in einer geeigneten Applikationsform erreicht werden.

Überraschenderweise ergab sich bei den Untersuchungen, daß in den Kombinationstherapien die therapeutisch wirksame GLP-1 Dosis um eine Zehnerpotenz niedriger liegt als bei der Monotherapie mit GLP-1. Sowohl durch Phosphodiesteraseinhibitoren als auch durch Guanylin oder Uroguanylin konnten die Nebenwirkungen der GLP-1 Monotherapie, insbesondere die Verzögerung der Magenentleerung, beseitigt werden.

Überraschenderweise wird nach einmaliger Applikation der Kombinationstherapie nicht nur der postprandiale Anstieg des Blutzuckerspiegels reduziert, sondern auch eine anschließende

Abnahme des Glukosespiegels auf fast normalen Blutzuckerspiegel erreicht.

Dies zeigt, daß bei der erfindungsgemäßen Kombination auf eine kontinuierliche Gabe des GLP-1 verzichtet werden kann.

Die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen mit den Einzelkomponenten GLP-1, Phosphodiesteraseinhibitoren, Guanylin oder ~~Uroguanylin~~ wurden in vitro in einem Bioaktivitäts-Assay untersucht. In diesem zellulären Assay wird die Bildung von cAMP untersucht. Die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen führten in diesem Assay zu einer bis zu 30fach höheren Bildung von cAMP als die Einzelkomponenten.

Überraschenderweise zeigte sich in Untersuchungen zum Funktionsmechanismus der Guanylin- und Uroguanylin-Wirkung auf die Insulinsekretion, daß cGMP-Analoga zu einer Erhöhung der cAMP-Konzentration in den Inselzellen führen.

Überraschenderweise verlängert die Gabe der erfindungsgemäßen Zusammensetzung die Wirkungsdauer der Einzelkomponenten.

Die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen reduzieren den Insulinbedarf bei Diabetes mellitus stärker als durch eine entsprechende Gabe von Einzelkomponenten der erfindungsgemäßen Zusammensetzungen.

Die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen eignen sich zur Therapie der insulinabhängigen Diabetes mellitus, nicht insulinabhängigen Diabetes mellitus, MODY (maturity-onset diabetes in young people), sekundärer Hyperglykämien im Zusammenhang mit Pankreaserkrankungen (chronische Pankreatitis, Pankresektomie, Hämochromatose) oder endokrinen Erkrankungen (Akromegalie, Cushing-Syndrom, Phäochromozytom oder Hyperthyreose), medikamentös induzierter Hyperglykämien (Benzuthiadiazin-Saluretika, Diazoxid oder Glukokortikoide), pathologischer Glukosetoleranz, Hyperglykämien, Dyslipo-

proteinämien, Fettsucht, Hyperlipoproteinämien und/oder Hypothonien.

Die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen können mit Peptidhormonen, die eine strukturelle Verwandtschaft mit dem Glukagon besitzen, und/oder mit den Peptidhormonen Adrenomedullin, Amylin, und/oder Calcitonin Gene Related Peptide (CGRP) eingesetzt werden. Die zur Glukagon-Multigenfamilie gehörenden Hormone sind das Sekretin, das Gastric Inhibitorische Peptid (GIP), das Vasoactive Intestinal Peptide (VIP), das Pituitary Adenylate Cyclase Activating Peptide (PACAP), das Glucagon Like Peptide II (GLP-II) und das Glicentin. Diese Peptide regulieren in unterschiedlicher Weise den Glukosestoffwechsel, die gastrointestinale Mobilität und das sekretorische Prozessing. Sowohl alle Genprodukte von Secretin, GIP, VIP, PACAP, GLP-II, Glicentin, Adrenomedullin, Amylin und CGRP als auch modifizierte Substanzen von Secretin, GIP, VIP, PACAP, GLP-II, Glicentin, Adrenomedullin, Amylin und CGRP können für diese Therapie eingesetzt werden.

Zur Therapie von Diabetes mellitus oder Fettsucht durch die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen kann GLP-1(7-34), GLP-1(7-35), GLP-1(7-36), oder GLP-1(7-37) in seiner C-terminal carboxylierten oder amidierten Form oder als modifizierte GLP-1 Peptide mit höherer biologischer Aktivität verwendet werden.

Zur Therapie von Diabetes mellitus oder Fettsucht mittels der erfindungsgemäßen Zusammensetzungen können unspezifische Phosphodiesteraseinhibitoren als Wirkstoff B, wie Papaverin, Theophyllin, Enprofyllin und/oder IBMX; und/oder spezifische Phosphodiesterasen Inhibitoren und insbesondere Phosphodiesteraseinhibitoren, die die Phosphodiesterasen der Gruppe III (cGMP-inhibierte Phosphodiesterasen), unter anderem Indolidan (LY195115), Cilostamide (OPC 3689), Lixazinone (RS 82856), Y-590, Imazodan (CI914), SKF 94120, Quazinone, ICI

153,110, Cilostazol, Bemorandan (RWJ 22867), Siguazodan (SK&F 94-836), Adibendan (BM 14,478), Milrinone (WIN 47203), Enoximone (MDL 17043), Pimobendan (UD-CG 115), MCI-154, Saterinone (BDF 8634), Sulmazole (ARL 115), UD-CG 212, Motapizone, Piroximone, ICI 118233 verwendet werden.

Desweiteren kommen Phosphodiesteraseinhibitoren, die die Phosphodiesterasen der Gruppe IV (cAMP-spizifische Phosphodiesterasen), wie Rolipram (ZK 62711; Pyrrolidone), Imidazolidinone (RO 20-1724), Etazolate (SQ 65442), Denbufylline (BRL 30892), ICI63197, RP73401 in Frage.

Auch Phosphodiesteraseinhibitoren die sowohl Phosphodiesterasen der Gruppen III als auch der Gruppe IV, wie Tolafentrine, Zardaverine, EMD54622, Org30029 sind verwendbar.

Als Wirkstoff C kommen Guanylat C-aktivierende Peptide der Gene Guanylin und/oder Uroguanylin, vorzugsweise Guanylin-101-115 und/oder Uroguanylin-89-112 in Betracht.

Zur Therapie von Diabetes mellitus oder Fettsucht durch die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen können die Genprodukte von Guanylin und Uroguanylin oder modifizierte, biologisch aktivere Moleküle von Guanylin und/oder Uroguanylin eingesetzt werden.

Die pharmakologisch verträglichen Salze werden in ähnlicher Weise durch Neutralisation der Basen mit anorganischen oder organischen Säuren erhalten. Als anorganische Säuren kommen zum Beispiel Salzsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure oder Bromwasserstoffsäure, als organische Säuren zum Beispiel Carbon-, Sulfo- oder Sulfonsäuren wie Essigsäure, Weinsäure, Milchsäure, Succinsäure, Alginsäure, Benzoesäure, 2-Phenoxybenzoesäure, 2-Acetoxybenzoesäure, Zimtsäure, Mandelsäure, Zitronensäure, Apfelsäure, Salicylsäure, 3-Aminosalicylsäure, Ascorbinsäure, Embonsäure, Nicotinsäure, Isonicotinsäure,

Oxalsäure, Aminosäuren, Methansulfonsäure, Ethansulfonsäure, 2-Hydroxyethansulfonsäure, Ethan-1,2-disulfonsäure, Benzolsulfonsäure, 4-Methylbenzolsulfonsäure oder Naphtalin-2-sulfonsäure in Frage.

Zur Herstellung der Arzneimittel wird neben den üblichen Hilfsmitteln, Träger- und Zusatzstoffen eine therapeutisch wirksame Kombination der Einzelsubstanzen oder deren Salze zur Behandlung der genannten Erkrankungen verwendet. Die Dosis des Kombinationspräparates ist abhängig von Spezies, Körpergewicht, Alter, individuellem Zustand und Applikationsart.

Peptidhaltige Arzneimittel werden in der dem Fachmann bekannten Weise für geeignete Applikationsweisen hergestellt. So kommen insbesondere orale, intravenöse, intramuskuläre, intrakutane, intrathekale und transpulmonale Applikation in Betracht. Die zu verabreichende Dosis für GLP-1 und seine Analoga beträgt bevorzugt 0,1 µg/kg Körpergewicht bis 10 mg/kg Körpergewicht. Die zu verabreichende Dosis für Guanylin und seine Analoga beträgt bevorzugt 0,1 µg/kg Körpergewicht bis 10 mg/kg Körpergewicht. Die zu verabreichende Dosis für Uroguanylin und seine Analoga beträgt bevorzugt 0,1 µg/kg Körpergewicht bis 10 mg/kg Körpergewicht. Als Applikationsformen kommen auch die in Mizellen und Biopolymere verpackten Peptide in Betracht.

Desweiteren können bekannte Releaseformen, mittels deren die Freisetzung von galenischen Darreichungsformen der Ingredientien dauerhaft oder pulsatorisch erreicht wird, zur Applikation verwendet werden. Dazu gehören vorzugsweise Biopolymere als Träger, Liposomen als Träger oder Infusionspumpen, so daß die Applikation u.a. subkutan, intravenös, peroral, intramuskulär oder transpulmonal durchgeführt werden können.

Feste Arzneiformen können inerte Hilfs- und Trägerstoffe enthalten, wie z.B. Calciumcarbonat, Calciumphosphat, Natriumphosphat, Lactulose, Stärke, Mannit, Alginate, Gelatine, Guar-gummi, Magnesium- oder Aluminiumstearat, Methylcellulose, Talkum, hochdisperse Kieselsäuren, Silikonöl, höhermolekulare Fettsäuren (wie Stearinsäure), Agar-Agar oder pflanzliche oder tierische Fette und Öle, feste hochmolekulare Polymere (wie Polyäthylenglycol); für orale Applikationen geeignete Zubereitungen können gewünschtenfalls zusätzliche Geschmacks- und/oder Süßstoffe enthalten.

Flüssige Arzneiformen können sterilisiert sein und/oder gegebenenfalls Hilfsstoffe wie Konservierungsmittel, Stabilisatoren, Netzmittel, Penetrationsmittel, Emulgatoren, Spreitmittel, Lösungsvermittler, Salze zur Regelung des osmotischen Drucks oder zur Pufferung und/oder Viskositätsregulatoren enthalten.

Derartige Zusätze sind zum Beispiel Tartrat- und Citrat-Puffer, Ethanol, Komplexbildner (wie Äthylendiamintetraessigsäure und deren nicht-toxische Salze). Zur Regelung der Viskosität kommen hochmolekulare Polymere in Frage wie beispielsweise flüssiges Polyethylenoxid, Carboxymethylcellulosen, Polyvinylpyrrolidone, Dextrane oder Gelatine. Feste Trägerstoffe sind zum Beispiel Stärke, Laktulose, Mannit, Methylcellulose, Talkum, hochdisperse Kieselsäuren, höhermolekulare Fettsäuren (wie Stearinsäure), Gelatine, Agar-Agar, Calciumphosphat, Magnesiumstearat, tierische und pflanzliche Fette, feste hochmolekulare Polymere (wie Polyethylen glycol).

Ölige Suspensionen für parenterale Anwendungen können vegetabile synthetische oder semisynthetische Öle wie beispielsweise flüssige Fettsäureester mit jeweils 8 bis 22 C-Atomen in den Fettsäureketten, zum Beispiel Palmitin-, Laurin-, Tridecyl-, Margarin-, Stearin-, Arachin-, Myristin-, Behen-, Pentadecyl-, Liol-, Elaidin-, Brasidin-, Eruca-, oder

Ölsäure, die mit ein- bis dreiwertigen Alkoholen mit 1 bis 6 C-Atomen wie beispielsweise Methanol, Ethanol, Propanol, Butanol, Pentanol oder deren Isomere, Glycol oder Glycerol verestert sein. Derartige Fettsäureester sind beispielsweise handelsübliche Miglyole, Isopropylmyristat, Isopropylpalmitat, Isopropylstearat, PEG 6-Caprinsäure, Capryl/Caprinsäureester von gesättigten Fettalkoholen, Polyoxyethylenglycaroltrioleate, Ethyloläat, wachsartige Fettsäureester wie künstliches Entenbürzeldrüsenfett, Kokosfettsäure-Isopropylester, Ölsäureoleylester, Ölsäuredecylester, Milchsäureethylester, Dibuthylphthalat, Adipinsäurediisopropylester, Polyolfettsäureester u.a. Ebenso geeignet sind Silikonöle verschiedener Viskosität oder Fettalkohole wie Isotrideoxylalkohol, 2-Octyldodecanol, Cetylstearyl-Alkohol oder Oleylalkohol, Fettsäuren wie beispielsweise Ölsäure. Weiterhin können vegetabile Öle wie Rizinusöl, Mandelöl, Olivenöl, Sesamöl, Baumwollsaatöl, Erdnußöl oder Sojabohnenöl Verwendung finden.

Als Lösungsmittel, Gelbildner und Lösungsvermittler kommen in Frage Wasser oder mit Wasser mischbare Lösungsmittel. Geeignet sind zum Beispiel Alkohole wie beispielsweise Ethanol oder Isopropylalkohol, Benzylalkohol, 2-Octyldodecanol, Polyethylenglykol, Wachse, Methylcelloseive, Celloseive, Ester, Morpholine, Dioxan, Dimethylsulfoxid, Dimethylformamid, Tetrahydrofuran, Cyclohexan etc..

Als Filmbildner können Celluloseether verwendet werden, die sich sowohl in Wasser als auch in organischen Lösungsmitteln lösen bzw. anquellen können und nach dem Trocknen eine Art Film bilden, wie beispielsweise Hydroxypropylcellulose, Methylcellulose, Ethylzellulose oder lösliche Stärken. Mischformen zwischen Gel- und Filmbildnern sind dadurch ebenfalls möglich. Hier kommen vor allem ionische Makromoleküle zur Anwendung, wie z.B. Natriumcarboxymethylcellulose, Polyacrylsäure, Polymethacrylsäure und deren Salze, Natriumamylopektinsemiglykolat, Alginsäure oder Propylenglykolalginat als

Natriumsalz, Gummi arabicum, Xanthan-Gummi, GuarGummi oder Carrageenan.

Als weitere Formulierungshilfsmittel können eingesetzt werden: Glycerin, Paraffin unterschiedlicher Viskosität, Triethanolamin, Collagen, Allantoin, Novantisolsäure, Parfüm-öle.

Auch die Verwendung von Tensiden, Emulgatoren oder Netzmitteln kann zur Formulierung notwendig sein, wie zum Beispiel von NaLaurylsulfat, Fettalkohlethersulfaten, Di-Na-N-lauryl- β -iminodipropionat, polyoxyethyliertes Rizinusöl, oder Sorbitan-Monooleat, Sorbitan-Monostearat, Cetylalkohol, Lecithin, Glycerinmonostearat, Polyethylenstearat, Alkylphenolpolyglykolether, Cetyltrimethylammoniumchlorid oder Mono-/Dialkylpolyglykolether-orthophosphorsäure-monoethanolaminsalze.

Stabilisatoren wie Mentmerillenite oder kolloidale Kieselsäure zur Stabilisierung von Emulsionen oder zur Verhinderung des Abbaus der aktiven Substanzen wie Antioxidanzien, beispielsweise Tocopherole oder Butylhydroxyanisol, oder Konservierungsmittel, wie p-Hydroxybenzoesäureester, können ebenfalls zur Zubereitung der gewünschten Formulierungen gegebenenfalls erforderlich sein.

Die Herstellung, Abfüllung und die Verschließung der Präparate erfolgt unter den üblichen antimikrobiellen und aseptischen Bedingungen. Die Abpackung erfolgt möglichst in separaten Dosiseinheiten zur Erleichterung der Handhabung, auch hier wie bei parenteralen Formen gegebenenfalls aus Stabilitätsgründen durch separate Abpackungen der Wirkstoffe beziehungsweise deren Kombinationen als Lyophilisat, gegebenenfalls mit festen Trägerstoffen und den erforderlichen Lösungsmitteln etc.

A n s p r ü c h e

1. Zusammensetzung enthaltend mindestens zwei der nachstehend genannten Wirkstoffe A, B, C, wobei

A = mindestens ein die Produktion von cAMP stimulierendes Hormon,
B = mindestens eine den Abbau eines cyclischen Nukleotids hemmende Substanz,
C = mindestens ein die Produktion von cGMP stimulierendes Hormon ist.
2. Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei Wirkstoff A GLP-1/GLP-1-like Peptide, vorzugsweise GLP-1-(7-34)amid und/oder GLP-1-(7-36)amid ist.
3. Zusammensetzung nach Anspruch 1 oder 2, wobei Wirkstoff B Phosphodiesteraseinhibitoren, vorzugsweise Inhibitoren der Phosphodiesterasen der Gruppen III und/oder IV ist.
4. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei Wirkstoff C Guanylatcyclase-C aktivierenden Peptiden der Gene Guanylin und/oder Uroguanylin, vorzugsweise Guanylin-101-115 und/oder Uroguanylin-89-112 ist.
5. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 4 in Kombination mit einem oder mehreren Peptidhormonen, die Einfluß auf die Inselzellsekretion haben, wie z. B. die Hormone der Sekretin / Gastric Inhibitorische Peptid (GIP) / Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) / Pituitary Adenylate Cyclase Activating Peptide (PACAP) / Glucagon Like Peptide II (GLP-II) / Glicentin / Glucagon Genfamilie und/oder der Adrenomedullin, Amylin, Calcitonin Gene Related Peptide (CGRP) Genfamilie.

6. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei Wirkstoff A GLP-1 ist und als GLP-1(7-34), GLP-1(7-35), GLP-1(7-36), oder GLP-1(7-37) in seiner C-terminal carboxylierten oder amidierten Form verwendet wird.
7. Zusammensetzung nach mindestens einem Ansprüche 1 bis 6, wobei im Wirkstoff GLP-1 die Aminosäure Lysin in ~~Position 26 und/oder 34~~ durch eine neutrale Aminosäure, Arginin oder eine D-Form von Lysin oder Arginin und/oder Substitution von Arginin in Position 36 durch eine neutrale Aminosäure, Arginin oder eine D-Form von Arginin oder Lysin substituiert ist.
8. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei im Wirkstoff GLP-1 Tryptophan in Position 31 durch eine Oxidation-resistente Aminosäure substituiert ist.
9. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 8, wobei im Wirkstoff GLP-1 mindestens eine in der jeweiligen Position angegebene Aminosäure durch die nachstehende Aminosäure substituiert ist:
Y für V in Position 16;
K für S in Position 18;
D für E in Position 21;
S für G in Position 22;
R für Q in Position 23;
R für A in Position 24; und
Q für K in Position 26.
10. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 9, wobei in GLP-1 mindestens eine in der jeweiligen Position angegebene Aminosäure durch die nachstehende Aminosäure substituiert ist:
eine kleine neutrale Aminosäure für A in der Position 8;

eine saure oder neutrale Aminosäure für E in der Position 9;

eine neutrale Aminosäure für G in der Position 10; und
eine saure Aminosäure für D in der Position 15.

11. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 10, wobei im Wirkstoff GLP-1 die Aminosäure Histidin in der Position 7 durch eine neutrale Aminosäure oder die D oder die N-acetylierte oder alkylierte Form von Histidin substituiert ist, und wobei für die angegebenen Substitutionen die Aminosäuren wahlweise in der D- oder L-Form vorliegen und die in der Position 7 substituierte Aminosäure wahlweise in der N-acetylierten oder N-alkylierten Form vorliegen.
12. Zusammensetzung nach Ansprüchen 1 bis 11, wobei die Aminosäuren Lysin in den Positionen 26 und/oder 34 durch K†, G, S, A, L, I, Q, M, R und R† und die Aminosäure Arginin in der Position 36 durch K, K†, G, S, A, L, I, Q, M, und R† substituiert ist.
13. Zusammensetzung nach Ansprüchen 1 bis 12, wobei die Aminosäure Tryptophan in der Positionen 31 durch F, V, L, I, A und Y substituiert ist.
14. Zusammensetzung nach Ansprüchen 1 bis 13, wobei die in Anspruch 6 angegebene Modifikation wahlweise mit mindestens einer Substitution von S für G in Position 22, R in den Positionen 23 und 24 für Q und A, und Q für K in der Position 26 kombiniert wird oder diese Substitutionen zusätzlich mit einer Substitution von D für E in der Position 21 kombiniert werden.
15. Zusammensetzung nach Ansprüchen 6 bis 14, wobei Alanin in Position 8 durch eine kleine neutrale Aminosäure aus der Gruppe von S, St, G, C, Ct, Sar, At, beta-ala, und Aib substituiert ist und wobei die in Position 9 für

Glutaminsäure substituierte saure oder neutrale Aminosäure aus der Gruppe von Et, D, Dt, Cay, T, Tt, N, Nt, Q, Qt, Cit, MSO, und acetyl-K stammt und wobei die in Position 10 für Glycin substituierte neutrale Aminosäure aus der Gruppe von S, St, Y, Yt, T, Tt, N, Nt, Q, Qt, Cit, MSO, acetyl-K, F, und Ft stammt.

16. Zusammensetzung nach Ansprüchen 6 bis 15, wobei die in ~~Position 7 für Histidin~~ substituierte Aminosäure aus der Gruppe von Ht, Y, Yt, F, Ft, R, Rt, Orn, Ornt, M, Mt, N-formyl-H, N-formyl-Ht, N-acetyl-H, N-acetyl-Ht, N-isopropyl-H, N-isopropyl-Ht, N-acetyl-K; N-acetyl-Kt, P, and Pt stammt.
17. Zusammensetzung nach Ansprüchen 1 bis 16, wobei das modifizierte Peptid:

(Ht)7-GLP-1(7-37),
(Y)7-GLP-1(7-37),
(N-acetyl-H)7-GLP-1(7-37),
(N-isopropyl-H)7-GLP-1(7-37),
(At)8-GLP-1(7-37),
(Et)9- GLP-1(7-37),
(D)9- GLP-1(7-37),
(Dt)9- GLP-1(7-37),
(Ft)10- GLP-1(7-37),
(S)22(R)23(R)24(Q)26- GLP-1(7-37), und/oder
(S)8(Q)9(Y)16(K)18(D)21- GLP-1(7-37) ist.

18. Zusammensetzung nach Ansprüchen 1 bis 17, wobei ein Peptid, daß im Vergleich zu GLP-1(7-34), GLP-1(7-35), GLP-1(7-36), oder GLP-1(7-37) oder dem C-terminalen Amid eine erhöhte Resistenz gegen Degradation im Plasma besitzt und/oder mindestens eine der folgenden Modifikationen besitzt:

- (α) Substitution von Histidin in Position 7 durch die D Form einer neutralen oder sauren Aminosäure oder der D Form von Histidin;
- (β) Substitution von Alanin in Position 8 durch die D Form einer Aminosäure, und
- (χ) Substitution von Histidine in Position 7 durch eine N-acylierte (1-6C) oder N-alkylierte (1-6C) Form einer alternativen Aminosäure oder Histidin.
19. Zusammensetzung nach Anspruch 18, wobei Histidin in Position 7 durch eine Aminosäure der Gruppe Pt, Dt, Et, Nt, Qt, Lt, Vt, It, and Ht substituiert ist.
20. Zusammensetzung nach Anspruch 18 oder 19, wobei die D-Aminosäure in Position 8 durch eine Aminosäure der Gruppe Pt, Vt, Lt, It, und At substituiert ist.
21. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 18 bis 20, wobei die D-Aminosäure in Position 8 durch eine alkylierte oder acetylierte Aminosäure der Gruppe P, D, E, N, Q, V, L, I, K, und H substituiert ist.
22. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 18 bis 21, wobei das modifizierte Peptid
- (Ht)7-GLP-1(7-37),
(N-acetyl-H)7-GLP-1(7-37),
(N-isopropyl-H)7-GLP-1(7-37),
(N-acetyl-K)7-GLP-1(7-37), und/oder
(At)8-GLP-1(7-37) ist.
23. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 22, wobei die Wirkstoffe in phosphorylierter, acetylierter und/oder glycosylierter Form vorliegen.

24. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 23, wobei Wirkstoff B unspezifische Phosphodiesterase-inhibitoren, wie
Papaverin,
Theophyllin,
Enprofylline und/oder
IBMX ist.
25. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 24, wobei Wirkstoff B spezifische Phosphodiesterasen Inhibitoren ist.
26. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 25, wobei Phosphodiesteraseinhibitoren, die die Phosphodiesterasen der Gruppe III (cGMP-inhibierte Phosphodiesterasen) hemmen, wie
- | | |
|---------------------------|-------------------------|
| Indolidan (LY195115), | Adibendan (BM 14,478), |
| Cilostamide (OPC 3689), | Milrinone (WIN 47203), |
| Lixazinone (RS 82856), | Enoximone (MDL 17043), |
| Y-590, | Pimobendan (UD-CG 115), |
| Imazodan (CI914), | MCI-154, |
| SKF 94120, | Saterinone (BDF 8634), |
| Quazinone, | Sulmazole (ARL 115), |
| ICI 153,110, | UD-CG 212, |
| Cilostazol, | Motapizone |
| Bemorandan (RWJ 22867), | Piroximone und/oder |
| Siguazodan (SK&F 94-836), | ICI 118233. |
27. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 26, wobei die Phosphodiesteraseinhibitoren, die die Phosphodiesterasen der Gruppe IV (cAMP-spezifische Phosphodiesterasen) hemmen
- Rolipram ZK 62711; Pyrrolidone),
Imidazolidinone (RO 20-1724)
Etazolate (SQ 65442)

Denbufylline (BRL 30892)
ICI63197 und/oder
RP73401 sind.

28. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 27, wobei die Phosphodiesteraseinhibitoren, die sowohl Phosphodiesterasen der Gruppen III als auch der Gruppe IV hemmen .

Tolafentrine,
Zardaverine,
EMD54622 und/oder
Org30029 sind.

29. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 28, wobei der Wirkstoff C Guanylat C-aktivierende Peptide der Gene Guanylin und/oder Uroguanylin, vorzugsweise Guanylin-101-115 und/oder Uroguanylin-89-112 ist.

30. Arzneimittel enthaltend eine wirksame Menge der Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 294 zur Therapie von insulinabhängigen Diabetes mellitus, nicht insulinabhängigen Diabetes mellitus, MODY (maturity-onset diabetes in young people), zur Behandlung sekundärer Hyperglykämien im Zusammenhang mit Pankreaserkrankungen (chronische Pankreatitis, Pankreasektomie, Hämochromatose) oder endokrinen Erkrankungen (Akromegalie, Cushing-Syndrom, Phäochromozytom oder Hyperthyreose), zur Behandlung medikamentös induzierter Hyperglykämien (Benzuthiadiazin-Saluretika, Diazoxid oder Glukokortikoide), zur Therapie von pathologischer Glukosetoleranz, zur Therapie von Hyperglykämien, zur Therapie von Dyslipoproteinämien, zur Therapie von Fettsucht, zur Therapie von Hyperlipoproteinämien und/oder Hypothonien.

Z u s a m m e n f a s s u n g

Zusammensetzung enthaltend mindestens zwei der nachstehend genannten Wirkstoffe A, B, C, wobei

- A = mindestens ein die Produktion von cAMP stimulierendes Hormon,
- B = mindestens eine den Abbau eines cyclischen Nukleotids hemmende Substanz,
- C = mindestens ein die Produktion von cGMP stimulierendes Hormon ist.